

АНАЛИЗ АКТИВАЦИИ ЭФФЕКТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ МОНОЦИТАРНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, НАГРУЖЕННЫМИ МЕМБРАННЫМИ ВЕЗИКУЛАМИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК IN VITRO

Научный руководитель – Китаева Кристина Викторовна

Харисова Ч.Б.¹, Городилова А.В.², Маясин Ю.П.³, Филлин И.Ю.⁴

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: harisovachulpan@gmail.com*; 2 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: annagorodilova23@gmail.com*; 3 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: mayasin_yuriy@mail.ru*; 4 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: filin.ivy@gmail.com*

Терапевтические вакцины на основе дендритных клеток (ДК) являются одними из перспективных подходов адъювантной терапии онкологических заболеваний. Данные клетки являются антигенпрезентирующими клетками, выполняющими главную роль в инициации адаптивного иммунного ответа. В качестве опухоль-специфичного антигена (ОСА) для презентации ДК могут быть применены мембранные везикулы благодаря наличию на их поверхности мембраны различных ОСА родительских клеток. Благодаря наличию молекул МНС ДК представляют опухолеспецифичный антиген для индукции как CD4⁺, так и CD8⁺ Т-лимфоцитов, приводя к дифференцировке и клональной экспансии. Активированные Т-лимфоциты выполняют ключевую роль в противоопухолевом иммунном ответе, направляясь к клетке-мишени для ее элиминации путем апоптоза. Целью исследования является анализ активации эффекторных Т-лимфоцитов дендритными клетками моноцитарного происхождения (моДК), нагруженными мембранными везикулами опухолевых клеток, на различных этапах культивирования в течение 7 дней.

Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) выделяли путем центрифугирования в градиенте плотности фикола. Для генерации моДК полученные путем адгезии клетки моноцитарной фракции культивировали в течение 7 дней с использованием цитокинового коктейля. В качестве ОСА использовали индуцированные цитохалазином В мембранные везикулы (иМВ), выделенные из клеток рака молочной железы линии MDA-MB-231 (иМВ-MDA-MB-231) и клеток глиобластомы линии SNB-19 (иМВ-SNB-19). К нагруженным ОСА ДК добавляли нативные МКПК и инкубировали в течение 7 суток для оценки активации Т-киллеров, Т-хелперов и Т-регуляторных клеток на 3, 5 и 7 день. Оценку активации Т-лимфоцитов проводили при помощи проточной цитофлуориметрии методом окрашивания конъюгированными антителами.

Нами было показано, что культивирование нативных МКПК со зрелыми моДК, нагруженными ОСА приводило к увеличению активированных Т-киллеров на 3 сутки: после моДК+иМВ-MDA-MB-231 на 5,25%, после моДК+иМВ-SNB-19 на 4,9% по сравнению с контрольной группой. На 7 сутки количество активированных Т-киллеров после моДК+иМВ-MDA-MB-231 составило 14,6%, по моДК+иМВ-SNB-19 - 17,45% по сравнению с контролем. При этом было отмечено увеличение количества активированных Т-хелперов 1 типа на 7 день культивирования: на 12,85% после моДК+иМВ-MDA-MB-231 и на 15,95% после моДК+иМВ-SNB-19. Стоит указать, что на 7 день культивирования доля активированных Т-регуляторных клеток в контрольном образце составила 8,2%, а

в опытных образцах МКПК+ДК+иМВ-MDA-MB-231 и ДК+иМВ-SNB-19 - 14,5% 14,7%, соответственно.

Таким образом, совместное культивирование нативных МКПК и моДК, загруженных опухолевыми антигенами, привело к значительному увеличению популяции активированных Т-киллеров, а также Т-хелперов 1 типа на 7 сутки. Однако необходимы дальнейшие исследования для изучения возможных путей иммуномодулирующей активности.